ÜBER DIE

QUANTITATIVE BESTIMMUNG DES GLYCOCOLLS

IN DEN

ZERSETZUNGSPRODUCTEN DER GELATINE.

INAUGURAL-DISSERTATION

DER

NATURWISSENSCHAFTLICHEN FACULTÄT

DER

KAISER-WILHELMS-UNIVERSITÄT STRASSBURG

ZUR

ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE

VORGELEGT VON

CHARLES S. FISCHER,

BROOKLYN, U. S. A.

STRASSBURG

VERLAG VON KARL J. TRÜBNER

1894.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547613_0187

Mit der Erkenntniss der Constitution des Eiweissmolecüls, sowie mit der genaueren Kenntniss der Zersetzungsproducte des Eiweisses hängt zweifellos ein wesentlicher Fortschritt in dem Studium der Stoffmetamorphose zusammen. Aber leider bietet gerade die Bearbeitung der Albumine und Albuminoïde solche Schwierigkeiten, dass wir trotz einiger sehr schönen Arbeiten bis jetzt noch relativ wenig vom Eiweiss wissen. Die interessanten Untersuchungen von Hlasiwetz, Habermann[1]) und Horbaczewski, die klassischen Arbeiten von Schützenberger[2]) haben gewiss recht schätzenswerthe Beiträge zur Kenntniss der Proteïnstoffe geliefert, aber keineswegs haben die genannten, sowie andere weniger bedeutende Arbeiten es vermocht, das Gebiet der Eiweisskörper aufzuschliessen.

In den von Hlasiwetz und Habermann einerseits und Schützenberger andererseits angegebenen Untersuchungsmethoden sind bis heute neuere Methoden nicht hinzugekommen, die Anspruch auf Originalität machen könnten. Es sind allerdings Versuche publicirt worden, die Verbesserungen des älteren Verfahrens bezweckten, und die beim Arbeiten mit Eiweissstoffen stets sich darbietenden Schwierigkeiten aus dem Wege räumen wollten. Jedoch haben alle

[1]) Annalen 169, 150, 159, 304.

[2]) Ann. de chimie et de phys., 5. Serie, 16, 1879.

diese Versuche ausser einigen Kunstgriffen wenig Neues gebracht. Heute noch hat man bei den Untersuchungen mit Proteïnsubstanzen fast mit allen denselben Unannehmlichkeiten zu kämpfen, wie vor 20 Jahren. Bei den meisten Reactionen erhält man die bekannten Schmieren, aus denen sich nur sehr schwer einheitliche Körper in beachtenswerthen Mengen gewinnen lassen. Es dürfte feststehen, dass infolge dieser Schwierigkeiten in vielen Fällen die Zersetzungsproducte der Eiweisskörper schon bei der qualitativen Prüfung sich nicht alle mit Sicherheit constatiren lassen.

Es dürfte daher gewagt sein, heute schon Theorien über die Constitution des Eiweissmolecüls aufzustellen. Die Hypothesen, die auf diesem Gebiete aufgestellt worden sind, so sinnreich sie sein mögen, genügen nicht, diese Constitution zu erklären. Ehe es möglich sein wird, sich eine Vorstellung über die Structur des Eiweissmolecüls zu machen, muss man die Zersetzung desselben nicht nur in qualitativer Hinsicht kennen, es wird bei dem wahrscheinlich höchst complicirten Bau des Molecüls auch nöthig sein, auf quantitative Bestimmungen der Reactionsproducte Gewicht zu legen. Schon Schützenberger war dieser Ansicht. Er arbeitete darauf hin, die bei der Zersetzung der Albumine entstehenden Körper, wenn möglich der Menge nach, zu bestimmen, und er scheint dies, was die flüchtigen Theile betrifft, auch erreicht zu haben. Dagegen ist es ihm sowie späteren Forschern nicht gelungen, für die Bestimmung der krystallisirbaren Substanzen eine brauchbare Methode zu erfinden.

Aber auch abgesehen von der rein chemischen, von der theoretischen Frage über die Constitution, ist es doch zweifellos für die physiologisch-chemische Forschung, für das Studium des allgemeinen Stoffwechsels von bedeutendem Interesse, zur quantitativen Ermittelung der bei der Zersetzung der Proteïnkörper entstehenden Stoffe ein anwendbares Verfahren zu besitzen. Nur dann wird man die hier in Betracht kommenden Umwandlungen in den Geweben mit Erfolg studiren können.

Zunächst muss es allerdings fast unmöglich erscheinen, alle entstehenden Producte der Menge nach bestimmen zu

können. Wie schon oben gesagt, ist dies für die flüchtigen Producte von Schützenberger gemacht worden. Dagegen muss es zweifelhaft erscheinen, dass der von ihm angegebene Weg, die festen krystallisirbaren Substanzen zu bestimmen, zum Ziele führt. Das Wesen seiner Methode beruht darin, dass die durch Säuren und Basen aus den Eiweisskörpern erhaltenen Producte auf dem Wege der fractionirten Krystallisation getrennt werden sollten.

Wie unzuverlässig diese Art zu untersuchen ist, wird Jeder gemerkt haben, der sich eingehend mit derartigen Arbeiten beschäftigt hat.

Man erhält stets dicke, schmierige Massen, aus denen die krystallisirbaren Körper nur sehr langsam und — was das Unangenehmste ist — nur sehr unvollständig auskrystallisiren. Die hierbei entstehenden Verluste gestatten nicht, von einer quantitativen Methode zu sprechen.

Dass man dieser Methode der fractionirten Krystallisation wohl kaum vertrauen kann, ergeben die abweichenden Resultate, welche die verschiedenen Forscher bei der «quantitativen» Bestimmung des Leucins in den Zersetzungsproducten des Eiweisses erhalten haben. Habermann und Hlasiwetz[1]) finden an Leucin 26% von der angewandten Eiweissmenge, Horbaczewski[2]) kommt zu 16% und endlich Gmelin[3]) nur $2^1/_2$ bis 3% ganz reine Substanz — also gewiss recht verschiedene Ausbeuten.

Aus den angegebenen Zahlen ist ersichtlich, dass die Verluste sich bis auf 20% belaufen können und ich habe mich durch zahlreiche Versuche davon überzeugt, dass solche Verluste absolut unvermeidlich sind, wenn man darauf ausgehen will, die Körper in reinem Zustande zu erhalten.

Die fractionirte Krystallisation kann man recht gut dazu verwenden, die verschiedenen Zersetzungsproducte nachzuweisen, aber um dieselben quantitativ zu bestimmen, müssen andere Methoden erdacht werden.

[1]) Annalen 169, 150.
[2]) Sitzungsbericht der Wiener Academie.
[3]) Dissertation Tübingen 1891.

Zunächst allerdings handelt es sich nur um die Bestimmung einer einzigen Substanz, um die des Glycocolls.

Die Anregung zu meinen Versuchen gaben die Arbeiten von Baumann und Udránszky[1]) über die Darstellung von Ptomainen durch Pankreasfäulniss der Eiweisskörper. Die von den genannten Forschern benutzte Ueberführung von löslichen Diaminen in unlösliche Benzoylverbindungen ist allgemein bekannt. Schon früher hat Baum[2]) angegeben, dass Glycocoll mit Benzoylchlorid und Natronlauge behandelt glatt und quantitativ in Hippursäure übergeführt werden kann. Es lag desshalb nahe, zu versuchen, ob nicht das Glycocoll auch in den Zersetzungsproducten der Eiweisskörper durch Ueberführung in Hippursäure quantitativ bestimmt werden könne.

Freilich beziehen sich meine Untersuchungen vorläufig nur auf Gelatine. Aber da die Annahme, dass die Eiweisskörper bei der Zersetzung kein Glycocoll geben, bis jetzt nicht mit Sicherheit bewiesen ist, so könnte zur Entscheidung dieser Frage das vorgeschlagene Verfahren von Wichtigkeit sein.

Ich gebe gerne zu, dass auch die folgende Methode vorläufig noch kleine Mängel zeigt, doch dürften diese durch weitere Versuche bald ausgemerzt sein.

Zur Zersetzung der Gelatine benutzte ich das von Habermann und Hlasiwetz vorgeschlagene Verfahren[3]), ohne aber zu der ursprünglichen salzsauren Lösung Zinnchlorür zuzugeben.

Des Letzteren haben sich die genannten Forscher bedient, um die dunkle Farbe der Lösung zu vermeiden. Diese dunkle Farbe tritt allerdings ohne Benutzung von Zinnchlorür immer auf, aber ich habe dies bis jetzt nicht als einen besonders grossen Nachtheil empfinden können, da die Braunfärbung im Verlauf der weiteren Verarbeitung des Reactionsproductes wieder verschwindet. Bei der Behandlung der tiefbraunen salzsauren Lösung mit Bleioxyd setzt sich der Farbstoff fest

[1]) Berichte 1888, 2744. Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. XIII, S. 562.
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. IX, S. 465.
[3]) Annalen 169, 150.

auf das ausgeschiedene Bleioxychlorid ab; die von Letzterem getrennte Flüssigkeit erscheint vollkommen klar und nur ganz schwach gelb gefärbt. Andererseits ist aber die Anwendung von Zinnchlorür desshalb nicht zu empfehlen, weil durch das Ausfällen des Zinns mittelst Schwefelwasserstoff das Abfiltriren des Schwefelzinns, Eindampfen des Filtrats die Anzahl der Operationen sich beträchtlich vermehrt und die Gefahr für Verluste grösser wird.

Aus demselben Grunde ist es auch angezeigt, nur mit relativ geringen Quantitäten zu arbeiten, da bei zu grossen Niederschlägen und zu grossen Flüssigkeitsmengen das Filtriren, Auswaschen, Eindampfen in unhandlichen Gefässen vorgenommen und das ganze Operiren zu umständlich werden muss. Auf Grund vieler Versuche halte ich die Anwendung einer Menge von ca. 50 gr. für sehr geeignet. Ich möchte betonen, dass natürlich bei allen Operationen auf das Peinlichste «quantitativ» gearbeitet werden muss, dass die Wägungen genau, das Filtriren, Auswaschen und Eindampfen ebenso exact ausgeführt werden müssen, wie man dies bei anorganischen Bestimmungen gewöhnt ist.

Ich will nun in Folgendem den Gang der Analyse genau beschreiben.

In einem 500 cbcm. fassenden Rundkolben bringt man ca. 50 gr. (genau abgewogen) zerkleinerte reine Gelatine unter beständigem Umschütteln allmälig mit 100 cbcm. Wasser zusammen. Die erweichte und aufgequollene Masse versetzt man mit 100 cbcm. einer conc. Salzsäure, indem man so lange umschüttelt, bis vollständige Lösung eingetreten ist. Man kocht alsdann ununterbrochen 72 Stunden lang am Rückflusskühler, wobei gegen Ende der Operation wegen eintretenden Stossens vorsichtiges Erhitzen geboten ist.

Das Reactionsproduct wird in einer Porzellanschale auf dem Wasserbad zur Neutralisation der Salzsäure unter beständigem Umrühren so lange mit in wenig Wasser suspendirtem, fein zerriebenem Bleioxyd versetzt, bis die Flüssigkeit neutrale oder besser schwach alkalische Reaction zeigt. Beim langsamen Erkalten setzt sich der Niederschlag gut ab. Häufig

nimmt allerdings die Masse in lauwarmem Zustande eine zähe, teigige Consistenz an, beim vollständigen Erkalten jedoch wird auch in diesem Falle die Substanz bröcklig, sodass sie unter der Flüssigkeit gut zerrieben werden und sich zu Boden senken kann. Die überstehende kalte Flüssigkeit trennt man mittelst Decantation durch ein kleines Filter von dem abgeschiedenen Oxychlorid; man digerirt dieses in der Schale öfters mit kaltem Wasser, lässt den Niederschlag sich immer möglichst absetzen, decantirt die Waschwasser durch das Filter und spült schliesslich den ganzen Niederschlag auf dasselbe. Nachdem man vollständig hat abtropfen lassen, entfernt man das in Lösung gegangene Bleisalz durch Schwefelwasserstoff, filtrirt vom Niederschlage ab, wäscht diesen gut aus und dampft Filtrat mit Waschwasser auf dem Wasserbad soweit ein, bis sich eine Krystallhaut bildet und die Menge der Masse ungefähr 50 cbcm. beträgt. Dieses aus den Zersetzungsproducten der Gelatine bestehende Gemisch wird nun in 10procentiger überschüssiger Natronlauge gelöst, und zwar hat sich ergeben, dass am Besten ungefähr das siebenfache Volumen vom Krystallbrei an Natronlauge angewandt wird. Unter diesen Verhältnissen löst sich das Gemenge der Amidosäuren zu einer hellgelben, klaren Flüssigkeit auf.

In einem mit Korkpfropfen gut verschliessbaren Cylinder, der ungefähr das doppelte Volumen von der in Rede stehenden Lösung fasst, wird letztere mit Benzoylchlorid versetzt. Bei Anwendung von 50 gr. Gelatine genügen 25 cbcm. des Chlorids. Es ist dieses in kleineren Portionen von ungefähr 5 cbcm. unter beständigem Umschütteln der Flüssigkeit zuzugeben. Zuerst verschwindet der Geruch des Benzoylchlorids rasch, während gegen Ende der Operation das Reagens nur langsam und schliesslich gar nicht mehr zersetzt zu werden scheint. Bei normalem Verlauf des Processes bedarf dieser circa eine Stunde. Zuweilen scheiden sich bei der Reaction in der stark alkalischen Flüssigkeit harzige braune Massen ab, welche wohl die Benzoylverbindungen des Leucins und der Glutaminsäure vorstellen. Diese Harzabsonderung wirkt aber in keiner Weise störend.

Es ist selbstverständlich, dass bei Untersuchungen von anderen Proteïnsubstanzen durch Controlversuche festgestellt werden muss, in welchen Mengen das Benzoylchlorid zur Anwendung zu kommen hat, um die vollständige Ueberführung des Glycocolls in Hippursäure zu bewirken. Die Angaben beziehen sich vorläufig nur auf die Zersetzung von Gelatine.

Ist die Einwirkung des Benzoylchlorids beendet, so säuert man mit concentrirter Salzsäure stark an und schüttelt die aus den Natriumsalzen freigemachten Benzoylverbindungen mit Essigäther so lange aus, bis dieser beim Verdunsten keinen Rückstand mehr hinterlässt. Man benutzt hierbei immer denselben Aether, indem man ihn direkt nach jeder Extraction abdestillirt. Um nicht zu oft ausschütteln zu müssen, ist der Aether jedesmal möglichst vollständig mit einer Pipette abzuheben. Die Anwendung des Essigäthers anstatt des gewöhnlichen Aethers ist desshalb zu empfehlen, weil dieser die Hippursäure nur schwer aufzunehmen im Stande ist, und in Folge dessen erstens das Ausschütteln viel längere Zeit beanspruchen würde und ausserdem auch die Extraction kaum eine vollständige sein dürfte.

Ist die Ausschüttelung beendet und lässt man die letzten Reste des Essigäthers auf dem Wasserbade vollständig verdunsten, so erhält man schliesslich eine dicke, braune, syrupartige Mischung von Hippursäure, Benzoësäure und den Benzoylverbindungen der anderen hier in Betracht kommenden Amidosäuren. Die Versuche, aus diesem Gemenge durch Krystallisation die Hippursäure abzuscheiden oder die Benzoësäure durch Auskochen mit Petroleumäther zu entfernen, sind als gescheitert zu betrachten.

Im ersten Falle krystallisirt entweder gar keine Hippursäure oder nur eine ganz geringe Quantität derselben aus, während bei der Extraction mit Petroleumäther die Benzoësäure nur durch anhaltendes Kochen am Rückflusskühler in bemerkenswerthen Mengen aus der dicken schmierigen Masse zu gewinnen ist. Die letztere Operation würde einen solchen Zeitaufwand beanspruchen, dass sie bei der Aus-

arbeitung einer rationellen quantitativen Trennungsmethode nicht in Betracht kommen kann.

Dagegen kann das Verhalten der Hippursäure einerseits und der Benzoësäure andererseits gegen Chloroform sehr gut zur Trennung der beiden Substanzen benutzt werden.

Aus einem Gemisch der Säuren zieht Chloroform überraschend schnell die Benzoësäure aus, während das Benzoylglycocoll fast quantitativ zurückbleibt. Aus einer Lösung der Säuren in Essigäther wird durch überschüssiges Chloroform die Hippursäure nach und nach beinahe vollständig gefällt, während die Benzoësäure ganz in Lösung bleibt.

Auf diesen Thatsachen gründet sich die weitere Behandlung unseres Reactionsproduktes. Die nach der Abdunstung des Essigäthers hinterbleibende syrupartige Masse wird im Kolben mit einem ziemlich grossen Ueberschuss (100 cbcm.) von Chloroform versetzt, wobei eine vollständige klare Lösung resultirt. Diese lässt man 24 Stunden im gut verschlossenen Kolben an einem kühlen Orte stehen. Gewöhnlich schon sofort, zuweilen erst nach einiger Zeit beginnt die Hippursäure sich als feines weisses Pulver abzuscheiden. Die Ausscheidung ist nach 24 Stunden beendet.

Mittelst Saugpumpe wird die Chloroform-Lösung durch ein kleines, getrocknetes und gewogenes Filter filtrirt, das Krystallpulver vollständig auf das Filter gebracht und mit kaltem Chloroform so lange rasch nachgewaschen, bis der Niederschlag rein weiss geworden ist. Nach dem Trocknen desselben auf 110° wird Filter sammt Inhalt gewogen. Auf diese Weise erhält man das Benzoylglycocoll quantitativ als weisses krystallinisches Pulver, welches schon jetzt den richtigen Schmelzpunkt zeigt und nur eines einmaligen Umkrystallisirens aus heissem Wasser bedarf, um sich in den schönsten vollständig ausgebildeten Krystallen abzuscheiden.

Es war zu erwarten, dass sich aus der Mutterlauge durch längeres Stehenlassen, durch weiteren Chloroformzusatz oder durch Concentration noch Säure gewinnen lassen würde. Doch alle zu diesem Zwecke angestellten Versuche erwiesen sich als fruchtlos. Sogar vollständiges Eindampfen der Lösung

und mehrmalige Wiederholung der ganzen Operation — wobei ganz verschiedene Mengen Chloroform zur Anwendung kamen — führten zu keinem Resultat.

Auch auf Zusatz von Petroleumäther, indem Hippursäure ja ganz unlöslich ist, zur Lösung in Chloroform fiel kein Benzoylglycocoll mehr aus, nur setzten sich hierbei die anderen Säuren als harzige schmierige Massen zu Boden.

Es drängt sich selbstverständlich die Frage auf: Wird durch die Gegenwart der bei der Zersetzung der Gelatine ausser Hippursäure entstehenden Säuren die Ausbeute an jener nicht wesentlich beeinflusst?

Zur Beantwortung dieser Frage schien es mir angezeigt, nach zwei Richtungen hin Versuche anzustellen; erstens musste untersucht werden, ob nach Entfernung der eventuell störenden Körper die besprochene Methode dieselben Resultate lieferte und zweitens musste das Verhalten dieser Körper in reinem Zustande, also bei Abwesenheit von Benzoylglycocoll, gegen die in Betracht kommenden Reagentien geprüft werden.

Die diesbezüglich angestellten Versuche ergaben für die Methode günstige Resultate.

Liessen wir nach der Salzsäurespaltung die Glutaminsäure vollständig auskrystallisiren und behandelten dann die glutaminsäurefreie Substanz genau so, wie oben angegeben, so erhielten wir dieselbe Ausbeute an Hippursäure wie früher.

Auch änderten sich die Zahlen nicht, wenn leucinfreie Präparate der Analyse unterworfen werden.

Es war fernerhin nicht unmöglich, dass die Behandung mit Essigäther zu Esterbildung Veranlassung geben und dadurch die Entstehung der Schmieren bewirken könnte.

Mir gelang es jedoch nie, Glycocollester in dem Essigätherauszug nachzuweisen.

Ausserdem erhielt ich bei Benutzung von absolutem, alkoholfreiem Aether genau dieselben schmierigen Produkte wie bei Anwendung von Essigäther.

Ehe ich die Versuche bespreche, die angestellt worden sind, um das Verhalten von reinem Leucin und reiner Glutamin-

säure bei der mir vorgeschlagenen Methode zu constatiren, will ich die Resultate der ausgeführten Analysen mittheilen.

Versuch I.

Gelatine	50 gr.
Wasser	100 cbcm.
Salzsäure conc.	100 »
Natronlauge (10 %)	350 »
Benzoylchlorid	25 »
Hippursäure, gefunden	4,6967 gr.
Daraus Glycocoll auf Gelatine berechnet	3,92 %.

Versuch II.

Gelatine	50 gr.
Wasser	100 cbcm.
Salzsäure, conc.	100 »
Natronlauge (10 %)	350 »
Benzoylchlorid	25 »
Hippursäure, gefunden	4,7771 gr.
Daraus Glycocoll auf Gelatine berechnet	3,98 %.

Versuch III.

Gelatine	49.99 gr.
Wasser	100 cbcm.
Salzsäure, conc.	100 »
Natronlauge (10 %)	350 »
Benzoylchlorid	25 »
Hippursäure, gefunden	4,2513 gr.
Daraus Glycocoll auf Gelatine berechnet	3,54 %.

Versuch IV.

Gelatine	49,50 gr.
Wasser	100 cbcm.
Salzsäure, conc.	100 »
Natronlauge (10 %)	350 »
Benzoylchlorid	25 »
Hippursäure, gefunden	4,3951 gr.
Daraus Glycocoll auf Gelatine berechnet	3,71 %.

Da die Hippursäure nicht absolut unlöslich in Chloroform ist, so habe ich einige Versuche gemacht, um zu ermitteln, ob für diese Resultate vielleicht kleine Correctionen anzubringen sind.

0,2047 gr. Benzoylglycocoll wurden mit 30 cbcm. Chloroform übergossen und 24 Stunden im gut verschlossenen

Kolben stehen gelassen. Der ungelöste Rest wurde gewogen und es ergab sich, dass 0,0310 gr. in Lösung gegangen sind, was einer Löslichkeit von 0,1030 gr. in 100 cbcm. Chloroform entspricht. Ein zweiter Versuch ergab die Löslichkeit von 0,1131 gr. in 100 cbcm. Chloroform.

Da auch durch das Waschchloroform kleinere Mengen der Benzoylverbindung in Lösung gegangen sind, so wurde auch die approximative Bestimmung der Quantität versucht. 0,66175 gr. Hippursäure wurden auf ein Filter gebracht und mit 40 cbcm. Chloroform übergossen.

Das in einem abgewogenen Bechergläschen aufgefangene Filtrat wurde auf dem Wasserbade zur Trockne verdampft. Das Gewicht des Rückstandes gab an, dass von 100 cbcm. Chloroform auf diese Weise 0,0515 gr. Hippursäure aufgenommen worden waren; ein zweiter Versuch ergab die Zahl 0,0506.

Es lässt sich demnach so mit Leichtigkeit, wenn es sich um absolute Genauigkeit handelt, eine entsprechende Correction anbringen.

Analyse der gefundenen Hippursäure.

1) Hippursäure	. . . . .	0,2005 gr.
Stickstoff	. . . . .	14,2 cbcm.
»	Procent	7,81 »
»	Theorie . .	7,82 »
2) Hippursäure	. . . . .	0,3361 gr.
Stickstoff	. . . . .	23,2 cbcm.
»	Procent	7,68 »
Hippursäure	. . . . .	0,1930 gr.
CO_2, gefunden	. . . . .	0,4230 »
C, Procent	. . . . .	59,74
H, gefunden	. . . . .	0,0932 gr.
H, Procent	. . . . .	5,33

Es ist oben erwähnt, dass zur Controlle der Methode auch Versuche mit den neben dem Glycocoll bei der Zersetzung sich bildenden Säuren angestellt wurden. Hier können meines Erachtens nur Glutaminsäure und Leucin Interesse

beanspruchen, da die von Drechsel[1]) beobachteten Lysin, Lysatin und Lysatinin sowie die von Schulze[2]) erwähnte Phenylpropionsäure in zu minimalen Mengen auftreten, um hier in Betracht kommen zu können.

Da die Benzoylverbindungen von Glutaminsäure sowohl wie von Leucin wenig untersucht worden sind, -- die von Destrem[3]) mit Leucin ausgeführten Experimente scheinen nicht besonders grossen Erfolg gehabt zu haben — so schien es nicht werthlos zu sein, das Verhalten derselben zu studiren.

Ich habe desshalb die beiden Säuren in reinem Zustande dargestellt und sie, wie oben beschrieben, der Analyse unterworfen.

Fünf Gramm reine in überschüssiger, zehnprocentiger Natronlauge gelöste Glutaminsäure wurden unter beständigem Umschütteln mit Benzoylchlorid so lange in kleinen Portionen versetzt, bis der Geruch des letzteren nicht mehr verschwand. Nach dem Ansäuern mit Salzsäure wurde mit reinem Aether ausgeschüttelt, der Aether möglichst vollständig abdestillirt und die letzten Reste desselben durch Erhitzen auf dem Warmbade verjagt. Durch längeres Auskochen des Extractes am Rückflusskühler mit Petroleumäther konnte die Benzoësäure vollständig entfernt werden; es hinterblieb eine dicke, dunkelbraungefärbte, in kaltem Wasser unlösliche, in heissem Wasser und Alkohol dagegen lösliche Masse, die in keiner Weise zum Krystallisiren gebracht werden konnte.

Die Lösung in viel heissem Wasser schied beim Erkalten den Körper wieder als Oel aus, während er von Chloroform so leicht aufgenommen wurde, dass er noch mit ganz geringen Mengen desselben eine ganz homogene Flüssigkeit bildete, aus der keine Spur eines festen Productes zu erhalten war.

Aehnliche Resultate erhielt ich bei der Untersuchung von Benzoylleucin. Das aus Gelatine nach den Angaben von Hlasiwetz und Habermann[4]) dargestellte Rohleucin wird

[1]) Sitzungsbericht der sächsischen Gesellschaft der Wissenschaften, April 1889 und 1892, Seite 115.

[2]) Zeitschrift für physiologische Chemie. Bd. IX, 63.

[3]) Bulletin de la Société chimique, Bd. 30, S. 561.

[4]) Annalen 169, 150.

zur Reinigung zunächst durch Absaugen und Abpressen auf Thonplatten möglichst getrocknet und dann am Rückflusskühler mit wenig ammoniakalischem Alkohol gekocht, bis Lösung eingetreten.

Es wird dann die heisse Flüssigkeit unter Benutzung von Saugpumpe und Heisswassertrichter filtrirt. Beim Abkühlen scheiden sich aus dem Filtrat kuglig gestaltete, gelbliche, anscheinend amorphe Massen ab, die durch Filtration und Abpressen von der Mutterlauge befreit werden. Diese, in wenig heissem Wasser aufgelöst, werden durch heisse Kupferacetatlösung in Kupferleucin überführt und zwar wird von dem Reagens so lange zugesetzt, bis die Flüssigkeit tief blau erscheint. Schon in der Hitze scheidet sich die Kupferverbindung des Leucins grösstentheils in hellblauen Schuppen ab. Aus der Mutterlauge lassen sich noch beträchtliche Mengen der Verbindung gewinnen, indem man auf dem Wasserbad unter Umrühren zur Trockne verdampft. Den fast schwarzen Trockenrückstand behandelt man mit kaltem Wasser, wobei das Kupferleucin ungelöst bleibt. Dieses wird in ein wenig heissem Wasser suspendirt, durch Schwefelwasserstoff zersetzt und das Filtrat vom Schwefelkupfer zur Trockne verdampft. Durch heissen ammoniakalischen Alkohol in Lösung gebracht, erhält man beim Erkalten das Leucin als kleine, perlmutterglänzende Schuppen im Zustande der Reinheit.

Werden von diesem reinen Product 5 gr. in der oben beschriebenen Weise behandelt, so erhält man auch hier einen dicken hellgelben Syrup, der sich gegen Lösungsmittel genau so verhält, wie die Verbindung der Glutaminsäure. In heissem Wasser, Alkohol und Chloroform ist er leicht löslich und es kann aus diesen Lösungsmitteln kein krystallinischer Körper abgeschieden werden.

Ich beabsichtige, sowohl diese als auch die bei der Behandlung der Glutaminsäure erhaltene einem genaueren Studium zu unterwerfen.

Jedenfalls glaube ich mit Recht die Annahme aussprechen zu dürfen, dass die Gegenwart von Leucin und Glutaminsäure

die Resultate bei meinem vorgeschlagenen Verfahren nicht beeinträchtigen wird.

Ich habe schon oben erwähnt, dass die besprochene Methode nicht ganz einwandfrei ist, dass auch sie kleine Mängel besitzt; jedoch wird sie schon so, wie sie ist, für physiologische Untersuchungen gewiss recht gute Dienste zu leisten im Stande sein. Trotzdem wird es natürlich mein Bestreben sein, sie zu verbessern und wenn möglich zu vereinfachen.

Das Vorkommen der Amidoessigsäure im thierischen Organismus ist keineswegs vollständig untersucht, und da die Constatirung und wenn möglich die quantitative Bestimmung derselben in den verschiedenen Organen von zweifellos grossem Interesse für das Studium des Stoffwechsels ist, so wird man wohl der Methode in Zukunft einige Aufmerksamkeit zuwenden können.

Was die Art und Weise der Bearbeitung der Organe anbelangt, so würde ich vorschlagen, das betreffende Organ in möglichst frischem Zustande zu zerkleinern, mit Wasser auszuziehen und das Fett durch Chloroform zu entfernen. Die eingedampfte wässerige Lösung wäre dann mit Natronlauge zu versetzen und mit Benzoylchlorid in der oben besprochenen Weise zu behandeln.

Ich glaube, dass die Untersuchung der Muskeln in diesem Sinne interessante Ergebnisse zu verzeichnen haben wird. Ferner könnte vielleicht die bisher von Einigen gemachte Annahme, dass das Glycocoll als Vorstufe für die Harnsäurebildung im Organismus zu betrachten sei, durch die quantitative Untersuchung ihre Bestätigung erfahren.

Die Frage, ob es wirklich die wahren Eiweisskörper beim Behandeln mit Basen und Säuren gar kein Glycocoll liefern, ist früher besprochen worden.

Es wird gewiss lohnend sein, in dieser Richtung eine Reihe von Prüfungen anzustellen, und besonders interessant könnte die Untersuchung des Serumalbumins sein. Nicht weniger wichtig wird die Analyse der Verdauungsproducte

des Leims sein, ich halte es für möglich, dass wir so einen Einblick in die Natur des Verdauungsprocesses bekommen.

Auch die Untersuchung der Nucleinbasen, welche bekanntlich überall im Organismus als intermediäre Producte bei der Harnstoffbildung auftreten und bei der Zersetzung Glycocoll geben, wird gewiss zu interessanten Ergebnissen führen.

Was schliesslich die Albuminoide selbst anbetrifft, so werden hier bei der Untersuchung vor allen Dingen Körper wie Elastin, Kreatin, Conchiolin, Fibroin und Spongin in Betracht kommen müssen.

Diese Untersuchungen wurden im chemisch-physiologischen Universitäts-Laboratorium zu Strassburg auf Anregung des Herrn Prof. Dr. Hoppe-Seyler ausgeführt. Es sei mir gestattet, an dieser Stelle meinem hochverehrten Lehrer für dessen steten Rath und Beistand meinen bleibenden Dank auszusprechen.

Lebenslauf.

Ich, Charles S. Fischer, wurde geboren zu Brooklyn, U. S. A., am 16. Januar 1866 als Sohn des Privatiers E. W. Fischer. Nach Absolvirung der Elementarschule besuchte ich die Polytechnische Schule zu Brooklyn. Im «Long Island College Hospital» studirte ich Medicin, promovirte daselbst und legte die ärztliche Staatsprüfung ab. Ein Jahr war ich dann Assistenzarzt an obigem Hospital. Seit Herbst 1888 studire ich ununterbrochen in Europa, und zwar zu Berlin, Genf und Strassburg. Die drei ersten Semester studirte ich Medicin und dann Chemie.

Es sei mir gestattet, an dieser Stelle meinen hochverehrten Herren Lehrern, Prof. Dr. Hoppe-Seyler und Fittig, meinen bleibenden Dank auszusprechen, in deren Laboratorien ich meine letzten Arbeiten ausgeführt habe.

Druckerei der «Str. N. N.», vorm. H. L. Kayser.